

УДК 615.212

# Анализ участия NMDA-рецепторов в анальгезии и гипотермии, вызванной активацией ионных каналов TRPV1

Е. А. Иванова\*, А. И. Матюшкин, Т. А. Воронина

Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова, Москва, 125315  
Россия

\*E-mail: iwanowaea@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.10.2022

Принята к печати 09.01.2023

DOI: 10.32607/actanaturae.11829

**РЕФЕРАТ** Глутаматные рецепторы NMDA-подтипа играют важную роль в ноцицепции в норме и при патологии. На периферии они могут взаимодействовать с ионными каналами TRPV1, блокада которых приводит к снижению вызванной NMDA гипералгезии, а антагонисты NMDA-рецепторов подавляют болевую реакцию при введении капсаицина, агониста TRPV1. Ионные каналы TRPV1 и NMDA-рецепторы способны функционально взаимодействовать на периферии, поэтому интерес представляет изучение возможности их взаимодействия на уровне ЦНС, чему и посвящена данная работа. Установлено, что в тесте отдергивания хвоста у мышей, воспроизводящем спинальный флексорный рефлекс, капсаицин при однократном его подкожном введении в дозе 1 мг/кг повышает порог болевой чувствительности к тепловому раздражителю, что объясняется его способностью вызывать длительную десенситизацию ноцицепторов. Превентивно введенные неконкурентные антагонисты NMDA-рецепторов (высокоаффинный МК-801, 20 мкг/кг и 0.5 мг/кг подкожно; низкоаффинный гимантан, 40 мг/кг внутривенно), как и селективный антагонист TRPV1 ВСТС (20 мг/кг внутривенно), препятствуют вызываемому капсаицином повышению порога болевой чувствительности. Введение капсаицина (однократно подкожно в дозе 1 мг/кг) приводит к кратковременной гипотермии у мышей, механизм которой объясняется запускаемыми гипоталамусом вегетативными реакциями. Этот эффект предупреждает введение ВСТС, но не неконкурентных антагонистов NMDA-рецепторов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** NMDA-рецепторы, ионные каналы TRPV1, капсаицин, мыши, ноцицепция, терморегуляция.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** МК-801 – (5S,10R)-(+)-5-метил-10,11-дигидро-5H-дibenzo[a,d]циклогептен-5,10-имингидромалеат; ВСТС – 4-(3-хлор-2-пиридинил)-N-4-(1,1-диметилэтил)фенил-1-пиперазин-карбоксамид.

## ВВЕДЕНИЕ

Взаимодействие глутамата с глутаматными рецепторами имеет ключевое значение для передачи возбуждения в центральной нервной системе (ЦНС) и играет важную роль в ноцицепции в норме и при патологии. В частности, при длительной активации ноцицепторов при повреждении тканей, нервов и воспалении происходит непрерывное выделение глутамата, который совместно с высвобождаемыми нейропептидами может вызвать долговременную деполяризацию мембраны, ликвидировать потенциалзависимую блокаду ионного канала глутаматных рецепторов NMDA-подтипа магнием и обеспечить их активацию [1]. Глутаматные рецепторы NMDA-подтипа представлены на первичных афферентах [2–5], и их стимуляция приводит к активации

или сенсibilизации ноцицепторов [2, 6–9]. На периферии глутаматные рецепторы NMDA-подтипа способны взаимодействовать с ионными каналами TRPV1 в каскадах кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы типа II (CaMKII) и протеинкиназы C (PKC); а введение AMG9810, антагониста ионных каналов TRPV1, подавляет вызванную NMDA (N-метил-D-аспарагиновой кислотой) механическую гипералгезию у крыс [10]. Введение антагонистов ионотропных NMDA, AMPA и метаботропных mGluR1 глутаматных рецепторов в плантарную область крыс снижает вызванную капсаицином, агонистом ионных каналов TRPV1, термическую гипералгезию и предотвращает повышение уровня глутамата в подкожном перфузате, наблюдаемое после инъекции капсаицина

в область плюсны животных [11]. Неконкурентные антагонисты NMDA-рецепторов – высокоаффинный (5S,10R)-(+)-5-метил-10,11-дигидро-5Н-добензо[а,d]-циклогептен-5,10-имингидромалеат (МК-801) и низкоаффинный N-(2-адамантил)-гексаметиленмина гидрохлорид (гимантан) – снижают длительность болевой реакции мышей на подкожную инъекцию раствора капсаицина в область плюсны при накожной аппликации, системном (внутрибрюшинном для гимантана и подкожном для МК-801) и подкожном интраплантарном введении [12].

Ионные каналы TRPV1 – неселективные катионные потенциалзависимые каналы, которые экспрессируются первичными афферентными нейронами, активируются «ванилоидными» соединениями, низким рН (рН<6.5), изменениями осмолярности, метаболитами арахидоновой кислоты, эндоканнабиноидами, температурой выше 42°C [13–17] и рассматриваются в качестве «интегратора сигналов» при патологических состояниях, о чем, в частности, свидетельствует возможность их функционального взаимодействия с глутаматными рецепторами NMDA-подтипа в афферентных нейронах тройничного нерва при механической гипералгезии [10]. Как и глутаматные рецепторы NMDA-подтипа, ионные каналы TRPV1 широко представлены в ЦНС [17]. Учитывая способность ионных каналов TRPV1 и глутаматных рецепторов NMDA-подтипа функционально взаимодействовать на периферии, изучение их взаимодействия в ЦНС представляет значительный интерес.

Цель данной работы состояла в оценке способности неконкурентных антагонистов NMDA-рецепторов – высокоаффинного МК-801 и низкоаффинного гимантана – влиять на эффекты капсаицина – агониста ионных каналов TRPV1, которые реализуются на уровне ЦНС: изменение порога болевой реакции в тесте отдергивания хвоста и ректальной температуры у мышей. Влияние антагонистов NMDA-рецепторов изучали в сравнении с проникающим через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [18] селективным антагонистом ионных каналов TRPV1 4-(3-хлор-2-пиридинил)-N-4-(1,1-диметилэтил)фенил-1-пиперазинкарбоксамидом (ВСТС).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Животные

В работе использовали половозрелых мышей-самцов ICR массой 23–26 г, полученных из питомника лабораторных животных филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (Московская область). Работы проводи-

ли в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (протокол № 01 от 28.01.2022).

### Объекты исследования, дозы, способы введения

Антагонисты NMDA-рецепторов – неконкурентный высокоаффинный антагонист (5S, 10R)-(+)-5-метил-10,11-дигидро-5Н-добензо[а,d]циклогептен-5,10-имингидромалеат (МК-801; Sigma Aldrich, США), неконкурентный низкоаффинный антагонист N-(2-адамантил)-гексаметиленмина гидрохлорид (гимантан; синтезирован и предоставлен химико-технологической лабораторией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»). Антагонист ионных каналов TRPV1 – 4-(3-хлор-2-пиридинил)-N-4-(1,1-диметилэтил)фенил-1-пиперазинкарбоксамид (ВСТС; Sigma Aldrich, США). Соединения вводили за 30 мин до введения раствора капсаицина: МК-801 – подкожно в дозах 20 мкг/кг и 0.5 мг/кг; гимантан – внутрибрюшинно в дозе 40 мг/кг, ВСТС – внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг.

Агонист ионных каналов TRPV1 капсаицин (Sigma Aldrich, США), разведенный в смеси физиологического раствора и этанола (9:1, v/v), вводили подкожно в дозе 1 мг/кг, в которой он вызывает кратковременную гипотермию у мышей [14].

### Тест отдергивания хвоста от воздействия теплового излучения (tail-flick)

Тест отдергивания хвоста основан на спинальном флексорном рефлексе в ответ на прогрессивно увеличивающееся воздействие теплового излучения на кожную поверхность и широко используется при оценке анальгетического эффекта различных веществ [19, 20]. В этом тесте последовательно активируются терморепцепторы, С-волокна полимодальных ноцицепторов, Ad-волокна полимодальных ноцицепторов, высокопороговые механорецепторы. Болевое раздражение наносили на хвост локально, воздействуя тепловым излучением с помощью анальгезиметра TSE-system (Германия). Интенсивность воздействия составляла 27%, что соответствовало постепенному увеличению темпе-

ратуры от 51 до 61°C в течение 15 с. Латентный период (ЛП) отдергивания хвоста, равный 15 с, рассматривали в качестве максимально допустимого времени нанесения раздражителя. Рассчитывали величину максимально возможного эффекта (МВЭ) по формуле:

$$МВЭ (\%) = \frac{(ЛП_{оп} - ЛП_{контр}) \times 100}{(МАХ_{время} - ЛП_{контр})}, \text{ где}$$

*ЛП<sub>оп</sub>* – латентный период реакции мышей через 30 мин после введения раствора капсаицина или антагонистов NMDA-рецепторов и ионных каналов TRPV1.

*ЛП<sub>контр</sub>* – латентный период контрольной группы мышей, которым вводили растворитель,

*МАХ<sub>время</sub>* – максимально допустимое время нанесения раздражителя (15 с).

Экспериментальную работу по изучению влияния неконкурентных антагонистов NMDA-рецепторов на вызванное капсаицином (агонист ионных каналов TRPV1) изменение порога болевой реакции в тесте отдергивания хвоста проводили в два этапа. На первом этапе оценивали влияние ВСТС, антагониста ионных каналов TRPV1, и антагонистов NMDA-рецепторов на чувствительность мышей к наносимому на хвост термическому раздражению через 30 мин после их введения. На втором этапе оценивали их влияние на повышенный при введении капсаицина порог болевой реакции животных через 30 мин после введения агониста ионных каналов TRPV1. В качестве контрольных групп использовали мышей, которым подкожно вводили растворители в эквивалентном объеме (10 мл/кг). В первом эксперименте растворителем служил физиологический раствор. Во втором эксперименте в качестве растворителя для ВСТС, гимантана и МК-801 использовали физиологический раствор, для капсаицина – смесь физиологического раствора и этанола (9:1, v/v), т.е. контрольные животные получали вместо ВСТС, гимантана и МК-801 физиологический раствор, вместо капсаицина – смесь физиологического раствора и этанола (9:1, v/v).

**Ректальную температуру** у мышей регистрировали с помощью ректального цифрового термометра производства Kent Scientific Corp. (США). В эксперимент включены группы животных, которым вводили растворители – физиологический раствор и смесь физиологического раствора и этанола (9:1, v/v); физиологический раствор и капсаицин; и группы животных, которым спустя 30 мин после введения изучаемых антагонистов NMDA-рецепторов и ионных каналов TRPV1 вводили капсаицин. Кроме

того, сравнивали влияние антагонистов NMDA-рецепторов и ионных каналов TRPV1 на ректальную температуру с группой мышей, которым вводили только физиологический раствор. Ректальную температуру регистрировали до введения растворителя, капсаицина, антагонистов NMDA-рецепторов и ВСТС и через каждые 30 мин после введения растворителя, антагонистов NMDA-рецепторов, ВСТС, капсаицина (2 ч) или через каждые 30 мин после введения капсаицина при его введении с антагонистами NMDA-рецепторов и ВСТС (2 ч).

**Статистическую обработку** результатов экспериментов осуществляли с помощью программы Statistica 10.0. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка с последующей оценкой межгруппового равенства дисперсий критерием Левена. При нормальном распределении в группах и соблюдении межгруппового равенства дисперсий дальнейшую статистическую обработку проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим сравнением групп с помощью критерия Ньюмана–Кейлса. При отсутствии нормального распределения использовали критерий Краскела–Уоллиса, который является непараметрической альтернативой однофакторного дисперсионного анализа. При обнаружении статистически значимых различий между группами с помощью критерия Краскела–Уоллиса проводили парное сравнение выборок, используя критерий Манна–Уитни. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Рисунки выполнены с помощью программы GraphPad Prism V. 8.4.3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспрессия ионных каналов TRPV1 максимальна в задних корешках спинного мозга крыс [21]; их кратковременная стимуляция вызывает длительное повышение пресинаптического уровня ионов кальция ( $Ca^{2+}$ ) и сопутствующее усиление выделения глутамата в синаптическую щель [22]. В свою очередь, активация глутаматных рецепторов NMDA-подтипа задних рогов спинного мозга необходима для инициации центральной сенситизации [23–26].

Спинальный флексорный рефлекс выбран в качестве ноцицептивной реакции, реализующейся на уровне спинного мозга, в механизме которой задействованы ионные каналы TRPV1 и глутаматные рецепторы NMDA-подтипа. Воспроизводящий его тест отдергивания хвоста [20, 27] позволяет оценивать способность антагонистов NMDA-рецепторов влиять на обусловленное активацией TRPV1 изменение чувствительности животных к тепловому

раздражителю. Известно, что у мышей VR<sup>-/-</sup> (у которых отсутствуют ионные каналы TRPV1) нарушена реакция на болевое термическое воздействие. С-волокна мышей VR<sup>-/-</sup> характеризуются сниженным порогом ответа на тепловое воздействие, а латентный период отдергивания хвоста в тесте тепловой иммерсии хвоста при погружении в горячую воду (tail immersion) температурой 50 и 52°C (но не 46 и 48°C) и реакции животных в тесте «Горячая пластина» температурой 52.5, 55 и 58°C (но не 50°C), наоборот, значительно повышен [14]. Поэтому в проведенном нами эксперименте – тесте отдергивания хвоста – термическое раздражение осуществляли, воздействуя на хвост животных тепловым излучением с постепенным увеличением температуры от 51 до 61°C (в течение 15 с).

Установлено, что однократное внутрибрюшинное введение ВСТС (антагониста ионных каналов TRPV1) в дозе 20 мг/кг значительно повышало ЛП отдергивания хвоста мышей на 36.4% по сравнению с контрольной группой; величина максимально возможного эффекта (МВЭ) соответствовала 15.09% (табл. 1). Известно, что антагонисты ионных каналов TRPV1 обладают анальгетическим действием [28]. В частности, полученные результаты согласуются с данными об эффективности однократного внутрибрюшинного введения ВСТС в дозах 3, 10 и 30 мг/кг на модели тепловой гипералгезии у крыс [29].

Низкоаффинный антагонист NMDA-рецепторов гимантан в дозе 40 мг/кг (внутрибрюшинно) повышал ЛП отдергивания хвоста мышей на 63.6% по сравнению с контрольной группой; МВЭ соответствовал 26.42%. Значимой разницы между группами животных, которым вводили ВСТС в дозе 20 мг/кг и гимантан в дозе 40 мг/кг, выявлено не было (табл. 1). Гимантан при однократном внутрибрюшинном введении в дозах 20 и 40 мг/кг дозозависимо уменьшал длительность болевой реакции мышей на подкожную инъекцию раствора капсаицина в область плюсны, поэтому в проведенном исследовании препарат использовали в дозе 40 мг/кг [12].

Высокоаффинный антагонист NMDA-рецепторов МК-801 при однократном подкожном введении мышам в дозе 20 мкг/кг, в которой он снижал длительность капсаицин-индуцированного болевого поведения мышей [12], и в большей дозе (0.5 мг/кг) не оказывал значимого влияния на порог чувствительности мышей к болевому тепловому воздействию в тесте отдергивания хвоста (табл. 1). Примечательно, что однократное введение МК-801, высокоаффинного антагониста NMDA-рецепторов, вызывало как проноцицептивный [30], так и антиноцицептивный эффект у крыс [31].

**Таблица 1.** Влияние антагонистов NMDA-рецепторов (гимантана и МК-801) и антагониста ионных каналов TRPV1 ВСТС на порог болевой чувствительности в тесте отдергивания хвоста от теплового излучения у мышей ICR. Медиана (Q1; Q3)

Группа	Число мышей в группе	ЛП отдергивания хвоста, с	МВЭ, %
Контроль	10	4.40 (3.90; 5.10)	0.00 (-4.72; 6.60)
ВСТС, 20 мг/кг	8	6.00 (5.20; 7.35)*	15.09 (7.55; 27.83)*
Гимантан, 40 мг/кг	8	7.20 (6.30; 10.05)*	26.42 (17.92; 53.30)*
МК-801, 20 мкг/кг	9	4.60 (4.10; 5.20)	1.89 (-2.83; 7.55)
МК-801, 0.5 мг/кг	9	4.00 (3.80; 4.40)	-3.77 (-5.66; 0.00)

Примечания: контроль – физиологический раствор; МВЭ – максимально возможный эффект. \**p* < 0.05 по сравнению с группой «Контроль», критерий Манна–Уитни.

Капсаицин при однократном подкожном введении в дозе 1 мг/кг выраженно повышал порог чувствительности мышей к болевому тепловому воздействию. ЛП отдергивания хвоста при введении капсаицина был на 67.4% выше, чем у мышей контрольной группы, которым вводили растворители – физиологический раствор + смесь физиологического раствора и этанола (9:1, v/v) (табл. 2). Зарегистрированный эффект капсаицина в тесте отдергивания хвоста у мышей объясняется его способностью вызывать длительную десенситизацию ноцицепторов [32].

Капсаицин не повышал порог чувствительности мышей, которым превентивно вводили ВСТС – селективный антагонист ионных каналов TRPV1, или антагонисты NMDA-рецепторов гимантан и МК-801, к болевому тепловому воздействию. Эффективность ВСТС, введенного мышам за 30 мин до подкожной инъекции капсаицина, была практически такой же, как в группе, получавшей только ВСТС. Так, ЛП отдергивания хвоста в группе «ВСТС, 20 мг/кг + капсаицин, 1 мг/кг» был значительно выше (на 38.04%), чем в контроле (группа «Физ. р-р + физ. р-р/этанол»); МВЭ соответствовал 16.83%. Гимантан в дозе 40 мг/кг, введенный за 30 мин до инъекции капсаицина, повышал ЛП отдергивания хвоста у мышей на 21.7% по сравнению с контрольной группой, МВЭ соответствовал 9.62% (табл. 2). Хотя значение ЛП отдергивания хвоста у животных,



**Таблица 2.** Влияние антагонистов NMDA-рецепторов (гимантана и МК-801) и антагониста ионных каналов TRPV1 (ВСТС) на повышение порога болевой чувствительности у мышей ICR, вызванное введением капсаицина. Медиана (Q1; Q3)

Группа	Число мышей в группе	ЛП отдергивания хвоста, с	МВЭ, %
Физ. р-р + физ. р-р/этанол	11	4.60 (4.50; 4.80)	0.00 (-0.96; 1.92)
Физ. р-р + капсаицин, 1 мг/кг	13	7.70 (6.80; 15.00)*	29.81 (21.15; 100.00)*
ВСТС 20 мг/кг + капсаицин, 1 мг/кг	8	6.35 (5.90; 7.45)*#	16.83 (12.50; 27.40)*#
Гимантан 40 мг/кг + капсаицин, 1 мг/кг	11	5.60 (4.90; 9.20)*#	9.62 (2.88; 44.23)*#
МК-801 20 мкг/кг + капсаицин, 1 мг/кг	14	4.60 (3.90; 4.90)#	0.00 (-6.73; 2.88)#
МК-801 0.5 мг/кг + капсаицин, 1 мг/кг	13	3.80 (3.40; 4.60)*#	-7.69 (-11.54; 0.00)*#

\* $p < 0.05$  по сравнению с группой «Физ. р-р + физ. р-р/этанол», критерий Манна–Уитни.

# $p < 0.05$  по сравнению с группой «Физ. р-р + капсаицин, 1 мг/кг», критерий Манна–Уитни.

которым гимантан вводили до инъекции капсаицина, было ниже, чем у животных, которым вводили только гимантан, значимых различий между показателями МВЭ в этих группах не выявлено (табл. 1, 2). Введение МК-801 в обеих дозах за 30 мин до инъекции капсаицина не повышало порог болевой чувствительности мышей к тепловому раздражителю в тесте отдергивания хвоста (табл. 2).

В группах мышей, которым антагонисты NMDA-рецепторов (гимантан и МК-801) и ВСТС вводили до инъекции капсаицина, ЛП отдергивания хвоста был значимо ниже, чем в группе мышей, которым вводили капсаицин и физиологический раствор (табл. 2).

Таким образом, в группах животных, которым превентивно (до инъекции капсаицина) вводили селективный антагонист TRPV1 ионных каналов ВСТС или антагонисты NMDA-рецепторов гимантан и МК-801, порог болевой чувствительности к тепловому раздражителю был значимо ниже, чем в группе мышей, которым вводили капсаицин и физиологический раствор. Это свидетельствует о сходном влиянии антагонистов NMDA-рецепторов и ВСТС – антагониста ионных каналов TRPV1. Эти соединения препятствовали действию капсаицина на ионные каналы TRPV1, приводящему к их де-

сенситизации и, соответственно, к выраженному повышению порога болевой чувствительности к тепловому раздражителю.

Одна из функций TRPV1 – участие в терморегуляции, в реализацию которого вовлечены центральные и периферические механизмы [33–35]. Системное введение капсаицина приводит к быстрому кратковременному снижению температуры тела, которое объясняют запускаемыми гипоталамусом вегетативными реакциями, такими, как вазодилатация и гиперсаливация [14, 36].

Глутаматные рецепторы бледного ядра шва (raphe pallidus nucleus, RPa) опосредуют терморегуляцию бурой жировой ткани, вызванной активацией нейронов дорсомедиального гипоталамуса: микроинъекции NMDA или каиновой кислоты в RPa вызывают повышение температуры бурой жировой ткани у крыс [37]. Превентивное введение селективного антагониста NMDA-рецепторов LY 235959 ослабляет вызванную агонистом ионных каналов TRPM8 и TRPA1 ицилином (Icilin, AG-3-5) гипертермию у крыс [38].

В нашем эксперименте однократное подкожное введение мышам капсаицина в дозе 1 мг/кг вызвало кратковременную гипотермию, которую регистрировали через 30 мин после введения: ректальная температура снижалась на 2°C по сравнению как с фоновым значением (до введения капсаицина), так и со значением в контрольной группе мышей, которым вводили растворители – физиологический раствор + смесь физиологического раствора и этанола (9:1, v/v). Через 60 мин после введения капсаицина регистрировали нормализацию ректальной температуры (рис. 1).

Проникающий через ГЭБ селективный антагонист ионных каналов TRPV1 ВСТС [18] при его однократном внутрибрюшинном превентивном введении в дозе 20 мг/кг препятствовал появлению гипотермического эффекта капсаицина. У мышей, которым последовательно вводили ВСТС, а затем подкожно капсаицин, ректальная температура через 30 и 60 мин после введения была значимо выше, чем в группе животных, которые получали капсаицин и физиологический раствор – на 2.5 и 0.8°C соответственно (рис. 1А). ВСТС, как и другие антагонисты ионных каналов TRPV1, вызывает гипертермию, механизм формирования которой пока не ясен [32]. Так, в проведенном нами эксперименте значимое повышение ректальной температуры (по сравнению с контрольной группой животных) у мышей, которым однократно внутрибрюшинно вводили ВСТС в дозе 20 мг/кг, было зарегистрировано через 30, 90 и 120 мин после введения на 1, 0.6 и 0.5°C соответственно (рис. 2А).

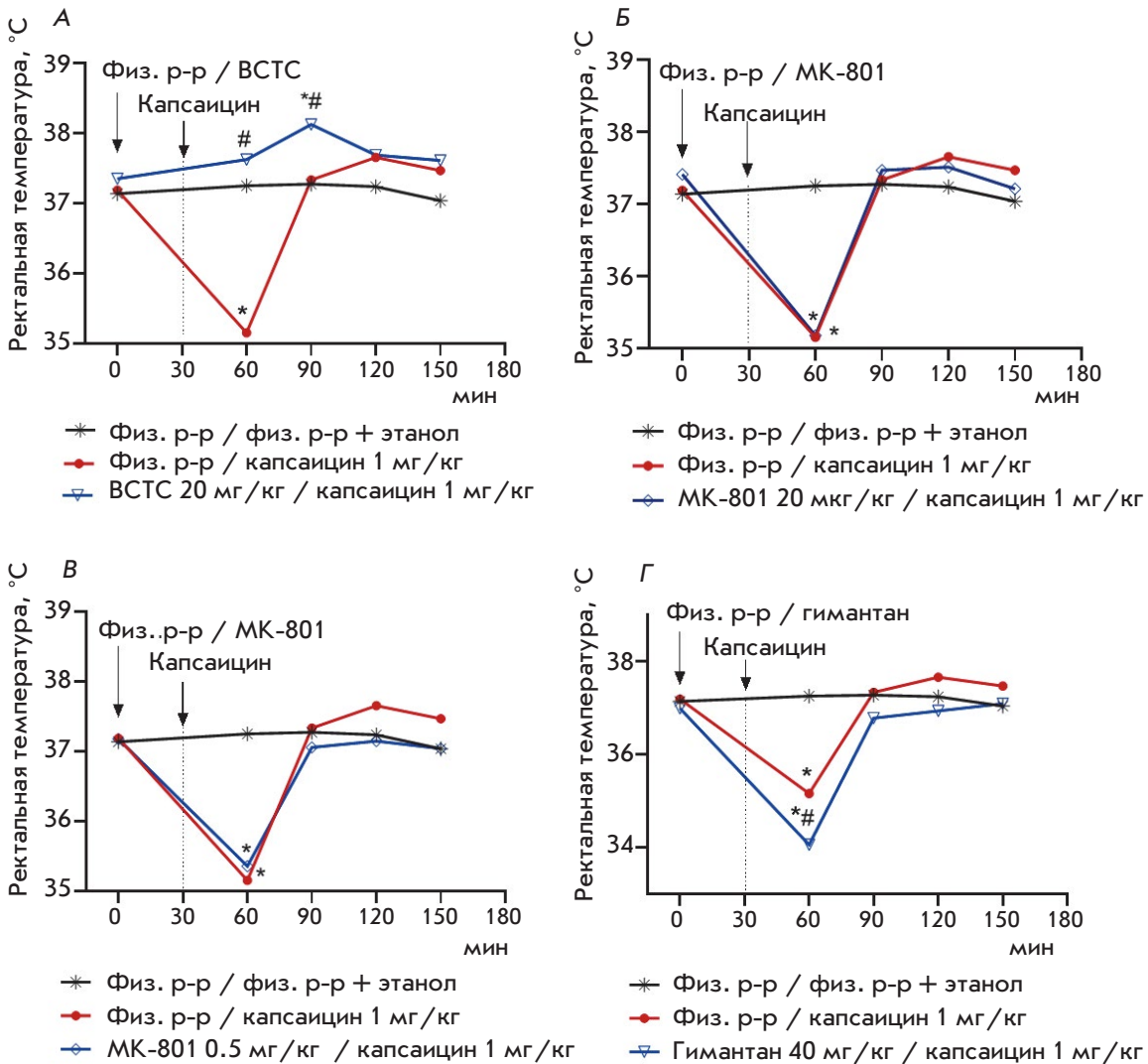


Рис. 1. Влияние антагониста ионных каналов TRPV1 ВСТС (А) и антагонистов NMDA-рецепторов гимантана (Г) и МК-801 (Б, В) на вызванное введением капсаицина снижение ректальной температуры у мышей. \* $p < 0.05$  по сравнению с группой «Физ. р-р / физ. р-р + этанол», критерий Ньюмена–Кейлса. # $p < 0.05$  по сравнению с группой «Физ. р-р / капсаицин 1 мг/кг», критерий Ньюмена–Кейлса

Неконкурентные антагонисты NMDA-рецепторов – высокоаффинный МК-801 и низкоаффинный гимантан – при однократном превентивном введении не предупреждали гипотермический эффект капсаицина, зарегистрированный на 30 мин после его инъекции. Ректальная температура мышей, которым вводили высокоаффинный антагонист NMDA-рецепторов МК-801 в дозах 20 мкг/кг и 0.5 мг/кг до инъекции капсаицина, через 30 мин после инъекции была равна соответственно 35.18 и 35.36°С; у животных группы «Капсаицин» ректальная температура была равна 35.16°С (рис. 1Б,В). При этом МК-801, как и ВСТС, в обеих дозах вызы-

вал гипертермию у мышей (рис. 2А,Б). Ректальная температура у животных, которым вводили высокоаффинный антагонист NMDA-рецепторов в дозе 0.5 мг/кг, была значимо выше, чем в контрольной группе мышей с 30 по 120 мин регистрации; в дозе 20 мкг/кг – через 30, 90 и 120 мин после введения МК-801 (рис. 2Б). Известно, что МК-801 способен вызывать у крыс как гипертермию в дозах до 1.2 мг/кг [39, 40], так и гипотермию – при повышении дозы до 3 мг/кг [40]. Зарегистрированное в проведенном нами эксперименте повышение ректальной температуры мышей при введении высокоаффинного антагониста NMDA-рецепторов

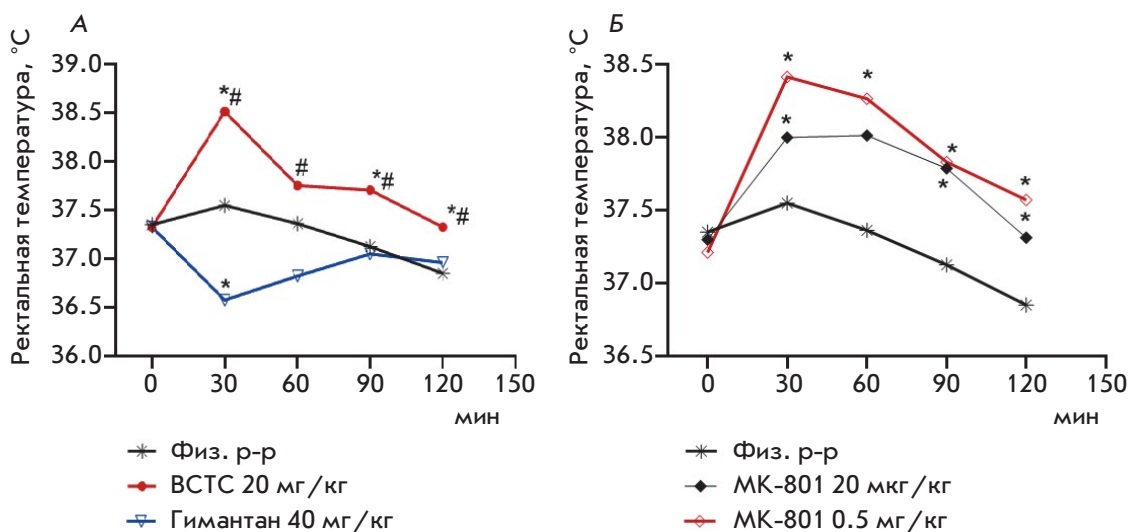


Рис. 2. Влияние антагониста ионных каналов TRPV1 ВСТС и антагонистов NMDA-рецепторов гимантана (А) и МК-801 (Б) на ректальную температуру мышей. \* $p < 0.05$  по сравнению с группой «Физ. р-р», критерий Ньюмена–Кейлса. # $p < 0.05$  по сравнению с группой «Гимантан 40 мг/кг», критерий Ньюмена–Кейлса

МК-801 может быть обусловлено его дофамин-позитивным действием. На синапсах стриатума крыс показано, что как неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов МК-801, так и конкурентный антагонист NMDA-рецепторов (+/-)-СРР (3-(2-карбоксихиперазин-4-ил)-пропил-1-фосфоновая кислота) ингибируют обратный захват дофамина [41]. Дофаминергическая система играет важную роль в регуляции температуры тела, агонисты D1- и D2-дофаминергических рецепторов вызывают гипертермию у крыс [42].

Гимантан при его однократном превентивном внутрибрюшинном введении в дозе 40 мг/кг за 30 мин до инъекции капсаицина значительно усиливал вызванную капсаицином гипотермию: гимантан на 1.1°C значительно снижал ректальную температуру мышей по сравнению с группой «Капсаицин» через 30 мин после введения агониста TRPV1 (рис. 1Г). При этом гимантан при однократном внутрибрюшинном введении в дозе 40 мг/кг интактным животным вызывал значимое снижение ректальной температуры на 1°C через 30 мин после введения; спустя 60 мин после введения гимантана ректальная температура мышей повышалась до значения, не отличавшегося значимо от ректальной температуры в контрольной группе (рис. 2А). Следовательно, капсаицин при введении через 30 мин после гимантана увеличивает длительность гипотермического действия гимантана до 60 мин. Через 60 мин после введения капсаицина значимой разницы ректальной температуры

у животных, которым вводили гимантан, не зафиксировано ни по сравнению с контрольной группой, ни по сравнению с группой «Капсаицин» (рис. 1Г).

Ранее было установлено, что однократное внутрибрюшинное введение гимантана в дозе 20 мг/кг приводит к снижению уровня серотонина и его метаболита 5-гидроксииндолуксусной кислоты в стриатуме мышей С57В1/6 [43]. Поэтому зарегистрированный гипотермический эффект гимантана, по-видимому, можно объяснить его влиянием на серотонинергическую систему, так как серотонинергические нейроны гипоталамуса контролируют температурный гомеостаз, а введение серотонина в термочувствительную зону переднего гипоталамуса вызывает гипертермию [44].

В качестве механизма TRPV1-индуцированной гипотермии рассматривают возбуждение чувствительных к капсаицину периферических нервов (соматосенсорных афферентов в коже и афферентных волокон блуждающего нерва в брюшной полости), передающих сигналы по полисинаптическим путям в отвечающую за терморегуляцию преоптическую (preoptic/anterior) область гипоталамуса [35]. Кроме того, проникающий через ГЭБ капсаицин [45] способен активировать ионные каналы TRPV1 нервных клеток гипоталамуса и за счет этого влиять на термочувствительность [35]. Так, введение капсаицина в преоптическую область гипоталамуса крыс вызывает быстрое снижение температуры тела, выраженность которого уменьшается при повторных инъекциях этого агониста TRPV1 [46].

Предварительное применение антагонистов NMDA-рецепторов предупреждало повышение порога болевой чувствительности, обусловленное введением капсаицина, в воспроизводящем спинальный флексорный рефлекс тесте отдергивания хвоста у мышей и снижало длительность их реакции (облизывание лапы) на инъекцию раствора капсаицина в область плюсны в исследовании, проведенном нами ранее [12]. Внутрикожная инъекция капсаицина в лапу крыс вызывала катализируемое протеинкиназой А (PKA) и PKC фосфорилирование субъединицы NR1 NMDA-рецепторов в нейронах дорсальных рогов спинного мозга и спинального тракта, зарегистрированное через 30 мин после инъекции капсаицина [47, 48]. Исходя из представленных фактов функционального взаимодействия NMDA-рецепторов и ионных каналов TRPV1, мы предполагали, что предварительное введение антагонистов NMDA-рецепторов МК-801 и гимантана снизит выраженность вызванной капсаицином гипотермии за счет ослабления передачи нервных импульсов с периферии (в частности, в спинном мозге) в преоптическую (preoptic/anterior) область гипоталамуса. Однако этого не произошло: не зарегистрировано предупреждение вызванной капсаицином кратковременной гипотермии при превентивном введении животным антагонистов NMDA-рецепторов. Следовательно, в механизме формирования вызванной капсаицином кратковременной гипотермии у мышей не обнаружено функционального взаимодействия ионных каналов TRPV1 и NMDA-рецепторов, подобного взаимодействию, выявленному в экспериментах по оценке болевой реакции мышей в тесте отдергивания хвоста или длительности реакции мышей при введении изучаемого агониста TRPV1 в область плюсны [12]. Поэтому полученные нами данные свидетельствуют в пользу способности

капсаицина – селективного агониста ионных каналов TRPV1 – проникать при системном введении через ГЭБ и действовать на нейроны в преоптической (preoptic/anterior) области гипоталамуса, влияя таким образом на термочувствительность.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что в тесте отдергивания хвоста у мышей, воспроизводящем спинальный флексорный рефлекс, превентивно введенные неконкурентные антагонисты NMDA-рецепторов (высокоаффинный МК-801 и низкоаффинный гимантан), как и ВСТС – селективный антагонист ионных каналов TRPV1, препятствуют вызываемому агонистом TRPV1 капсаицином повышению порога чувствительности к болевому тепловому раздражителю. Учитывая взаимодействие NMDA-рецепторов и ионных каналов TRPV1 на периферии, эффект, зарегистрированный в тесте отдергивания хвоста у мышей, можно объяснить влиянием изучаемых соединений на афферентную иннервацию. Оценка этого взаимодействия на уровне ЦНС требует проведения дальнейших исследований.

Однократное подкожное введение капсаицина приводит к кратковременной гипотермии у мышей, и предварительное введение ВСТС – селективного антагониста ионных каналов TRPV1, но не неконкурентных антагонистов NMDA-рецепторов МК-801 и гимантана, отменяет этот эффект. Полученные данные подтверждают возможность функционального взаимодействия NMDA-рецепторов и ионных каналов TRPV1 при вызванной капсаицином антиноцицептивной реакции, но не подтверждают эту возможность при вызванной капсаицином кратковременной гипотермии, механизм которой объясняют вегетативными реакциями, запускаемыми гипоталамусом. ●

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chrzh B.A. // *Amino Acids*. 2002. V. 23. № 1–3. P. 169–176.
2. Carlton S.M., Hargett G.L., Coggeshall R.E. // *Neurosci. Lett*. 1995. V. 197. № 1. P. 25–28.
3. Coggeshall R.E., Carlton S.M. // *J. Comp. Neurol*. 1998. V. 391. № 1. P. 78–86.
4. Kinkelin I., Bröcker E.B., Koltzenburg M., Carlton S.M. // *Neurosci. Lett*. 2000. V. 283. № 2. P. 149–152.
5. Ma Q.P., Hargreaves R.J. // *Neuroscience*. 2000. V. 101. № 3. P. 699–707.
6. Du J., Koltzenburg M., Carlton S.M. // *Pain*. 2001. V. 89. № 2–3. P. 187–198.
7. Lawand N.B., Willis W.D., Westlund K.N. // *Eur. J. Pharmacol*. 1997. V. 324. № 2–3. P. 169–177.
8. Zhou S., Bonasera L., Carlton S.M. // *Neuroreport*. 1996. V. 7. № 4. P. 895–900.
9. Christoph T., Reissmüller E., Schiene K., Englberger W., Chizh B.A. // *Brain Res*. 2005. V. 1048. № 1–2. P. 218–227.
10. Lee J., Saloman J.L., Weiland G., Auh Q.S., Chung M.K., Ro J.Y. // *Pain*. 2012. V. 153. № 7. P. 1514–1524.
11. Jin Y.H., Yamaki F., Takemura M., Koike Y., Furuyama A., Yonehara N. // *J. Pharmacol. Sci*. 2009. V. 109. № 2. P. 233–241.
12. Иванова Е.А., Матюшкин А.И., Воронина Т.А. // *Хим.-фарм. журн*. 2021. Т. 55. № 9. С. 3–6.
13. Tominaga M., Caterina M.J., Malmberg A.B., Rosen T.A., Gilbert H., Skinner K., Raumann B.E., Basbaum A.I., Julius D. // *Neuron*. 1998. V. 21. № 3. P. 531–543.
14. Caterina M.J., Leffler A., Malmberg A.B., Martin W.J., Trafton J., Petersen-Zeit K.R., Koltzenburg M., Basbaum A.I., Julius D. // *Science*. 2000. V. 288. № 5464. P. 306–313.
15. Chung M.K., Guler A.D., Caterina M.J. // *Nat. Neurosci*. 2008. V. 11. № 5. P. 555–564.
16. Chavez A.E., Chiu C.Q., Castillo P.E. // *Nat. Neurosci*. 2010.



- V. 13. № 12. P. 1511–1518.
17. Sanchez J.F., Krause J.E., Cortright D.N. // *Neuroscience*. 2001. V. 107. № 3. P. 373–381.
18. Valenzano K.J., Grant E.R., Wu G., Hachicha M., Schmid L., Tafesse L., Sun Q., Rotshteyn Y., Francis J., Limberis J., et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003. V. 306. № 1. P. 377–386.
19. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. Миронова А.Н. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
20. Bannon A.W., Malmberg A.B. // *Curr. Protoc. Neurosci.* 2007. Chapter 8:Unit 8.9.
21. Sanchez J.F., Krause J.E., Cortright D.N. // *Neuroscience*. 2001. V. 107. № 3. P. 373–381.
22. Medvedeva Y.V., Kim M.S., Usachev Y.M. // *J. Neurosci.* 2008. V. 28. № 20. P. 5295–5311.
23. Bleakman D., Alt A., Nisenbaum E.S. // *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2006. V. 17. № 5. P. 592–604.
24. Chizh B.A., Headley P.M. // *Curr. Pharm. Des.* 2005. V. 11. № 23. P. 2977–2994.
25. Salter M.W. // *Curr. Top. Med. Chem.* 2005. V. 5. № 6. P. 557–567.
26. Woolf C.J. // *Anesthesiology*. 2007. V. 106. № 4. P. 864–867.
27. Dewey W.L., Harris L.S., Howes J.F., Nuite J.A. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1970. V. 175. № 2. P. 435–442.
28. Trevisani M., Gatti R. // *Open Pain J.* 2013. № 6 (Suppl 1: M11). P. 108–118.
29. Tekus V., Bölcskei K., Kis-Varga A., Deezsi L., Szentirmay E., Visegrady A., Horvath C., Szolcsanyi J., Petho G. // *Eur. J. Pharmacol.* 2010. V. 641. № 2–3. P. 135–141.
30. Al-Amin H., Saade N., Khani M., Atweh S., Jaber M. // *Brain Res.* 2003. V. 981. № 1–2. P. 99–107.
31. Forman L.J. // *Life Sci.* 1999. V. 64. № 21. P. 1877–1887.
32. Iftinca M., Defaye M., Altier C. // *Drugs*. 2021. V. 81. № 1. P. 7–27.
33. Kauer J.A., Gibson H.E. // *Trends Neurosci.* 2009. V. 32. № 4. P. 215–224.
34. Sharif-Naeini R., Ciura S., Bourque C.W. // *Neuron*. 2008. V. 58. № 3. P. 179–185.
35. Caterina M.J. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2007. V. 292. № 1. P. R64–R76.
36. Jancso-Gabor A., Szolcsanyi J., Jancso N. // *J. Physiol.* 1970. V. 206. № 3. P. 495–507.
37. Cao W.H., Morrison S.F. // *Neuropharmacology*. 2006. V. 51. № 3. P. 426–437.
38. Ding Z., Gomez T., Werkheiser J.L., Cowan A., Rawls S.M. // *Eur. J. Pharmacol.* 2008. V. 578. № 2–3. P. 201–208.
39. Pechnick R.N., Hiramatsu M. // *Eur. J. Pharmacol.* 1994. V. 252. № 1. P. 35–42.
40. Hetzler B.E., Burkard H.K. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1999. V. 62. № 3. P. 559–573.
41. Ковалев Г.И., Абаимов Д.А., Воронин М.В., Фирстова Ю.Ю., Долотов О.В. // *Нейрохимия*. 2007. Т. 24. № 2. С. 143–149.
42. Nagashima M., Yamada K., Kimura H., Matsumoto S., Furukawa T. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1992. V. 43. № 4. P. 993–997.
43. Абаимов Д.А., Зимин И.А., Кудрин В.С., Ковалев Г.И. // *Эксп. клин. фармакол.* 2009. Т. 72. № 1. С. 64–67.
44. Myers R.D. // *J. Physiol. (Paris)*. 1981. V. 77. № 2–3. P. 505–513.
45. Saria A., Skofitsch G., Lembeck F. // *J. Pharm. Pharmacol.* 1982. V. 34. № 4. P. 273–275.
46. Jancso-Gabor A., Szmrecsanyi J., Jancso N. // *J. Physiol.* 1970. V. 208. № 2. P. 449–459.
47. Zou X., Lin Q., Willis W.D. // *Neuroscience*. 2002. V. 115. № 3. P. 775–786.
48. Zou X., Lin Q., Willis W.D. // *Brain. Res.* 2004. V. 1020. P. 95–105.